

研究種目：基盤研究 (S)

研究期間：2004～2008

課題番号：16101008

研究課題名 (和文) 森林樹木種および外生菌根菌種の網羅的分子遺伝解析と  
分子生態データベースの構築研究課題名 (英文) Exhaustive molecular genetic analysis and molecular ecology  
database construction of tree and ectomycorrhizal fungal  
species

研究代表者

宝月 岱造 (HOGETSU TAIZO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：10107170

研究成果の概要：

- ① 分子生態学解析に必要な不可欠な核マイクロサテライトマーカの新たな作製方法を確立した。確立した方法を用いて、多数の植物種、外生菌根菌種のマーカを作製した。
- ② マイクロサテライトマーカを用いた分子生態学解析により、北方林樹木やマングローブ林樹木など多様な植物種の多様な繁殖様式を明らかにした。
- ③ 森林の主要な共生菌類である外生菌根菌について、核マイクロサテライトマーカ等による分子生態学解析を行い、通常私たちの目に触れることのない森林の地下での繁殖特性を明らかにした。
- ④ 葉緑体マイクロサテライトマーカを用いて、マングローブ林樹木などいくつかの樹種で、広い地域での遺伝地理的分化を明らかにした。
- ⑤ 本研究では、新たなマーカの塩基配列や繁殖特性など、大量の森林樹木および外生菌根菌に関する分子生態情報を蓄積した。この蓄積は、今後、将来世代のための分子生態データベース構築への取り組みに弾みを付けるはずである。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2004 年度	33,600,000	10,080,000	43,680,000
2005 年度	12,800,000	3,840,000	16,640,000
2006 年度	12,800,000	3,840,000	16,640,000
2007 年度	12,800,000	3,840,000	16,640,000
2008 年度	8,500,000	2,550,000	11,050,000
総計	80,500,000	24,150,000	104,650,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：資源保全学・資源保全学

キーワード：マイクロサテライト、SSR、葉緑体 DNA、繁殖生態、遺伝地理、共生菌類

## 1. 研究開始当初の背景

樹木およびその生長を支える外生菌根菌の繁殖機構についての情報は、森林の保全や再生を考える上では不可欠なものである。一方、樹木種の遺伝地理的情報は、最終氷期以降の温暖化といった過去の気

候変動を様々な形で反映しており、深刻な地球温暖化に直面するであろう将来の人々にとって極めて重要なものである。しかし、それらの情報は必ずしも十分に蓄積されていない。

森林樹種および外生菌根菌種の繁殖機

構の情報や樹木の遺伝地理に関する情報は、森林保全や再生の基盤となる基本データとして重要であるとともに、将来の研究者にとっては、彼らの時代と過去との比較を可能にする極めて貴重な遺産になるはずである。現時点でこのような情報を蓄積することは、将来の世代に対する私達の緊急かつ重要な責務といえる。

## 2. 研究の目的

森林を構成する樹木や菌類の繁殖を比較的狭いスケールで考えると、それぞれの種は、固有な花粉散布機構、種子散布機構、孢子散布機構等の繁殖機構に基づいて、個体群を維持していると見ることができる。また広いスケールで考えると、それぞれの繁殖機構に基づいて、固有な遺伝地理的構造を形作っていることが予想される。本研究では、核 DNA および葉緑体 DNA のマイクロサテライトマーカーを用いて、樹木と外生菌根菌の狭いスケールでの繁殖特性と、樹木の広いスケールでの遺伝地理的構造とを、出来るだけ多数の種に関して解析する。前者では、各樹種の花粉散布機構、種子散布機構等を明らかにする。菌根菌に関しては、各菌種の孢子散布機構や地下群集構造を明らかにする。また後者では、葉緑体 DNA の多型解析により、広い地域での樹木の遺伝分化状況を明らかにする。

これらの解析により、多数の樹種や菌種の繁殖機構と遺伝地理的構造とを明らかにし、将来世代のための分子生態データベース構築に先鞭を付ける。

## 3. 研究の方法

野外から樹木および外生菌根菌の試料を採集し、核マイクロサテライトマーカーと葉緑体マイクロサテライトマーカーによる多型解析、rDNA マーカーによる菌種同定を行う。それらの結果から、それぞれの樹種、菌種の生態的繁殖特性や遺伝地理的特徴を推定する。

## 4. 研究成果

- (1) 汎用性の高い新たな核マイクロサテライトマーカー作製方法を複数確立し、公表した。なお、この成果に関連して「第6回日本 DNA 多型学会優秀研究賞」および"Journal of Plant Research Most-Cited Paper Award 2009"を受賞している。
- (2) 北方林樹木、マングローブ林樹木について対象樹木種の核および葉緑体マイクロサテライトマーカーを用いて多型解析を

行い、花粉散布、種子散布のパターンや範囲等、各樹種の生態的繁殖特性を明らかにした。また、新たな数理モデルを考案、適用して花粉散布パターンを定量化した。

- (3) 富士山火山荒原に生育する外生菌根菌種やマツタケ菌の生態的繁殖特性を明らかにした。また、地下部群集構造も明らかにした。その結果、森林地下部では多数の外生菌根菌種が割拠しており、しかもダイナミックに変動している姿が浮き彫りになった。また、外生菌根菌の新たな生態機能も見いだした。なお、成果に関連して「平成 22 年度日本農学賞」および「平成 22 年度読売農学賞」を受賞している。
- (4) マングローブ林樹木等について、葉緑体マイクロサテライトの多型解析により樹木の遺伝地理的特徴を明らかにした。
- (6) 本研究で確立した核マイクロサテライトマーカー作製方法は、極めて汎用性が高く、大きなインパクトを世界に与えた。実際、樹木や菌根菌のみならず、これまでに草本植物、高等動物、昆虫、線虫、藻類、プランクトン、病原菌等、多数の生物種のマーカー作製に利用されている。
- (7) 核マイクロサテライトマーカーおよび葉緑体マイクロサテライトマーカーの両者を組み合わせて行った樹木の分子生態研究は殆どなく、本研究は分子生態学に新たな研究方法を導入したと言って良い。
- (8) 本研究は、世界における外生菌根菌の地下部の分子生態学的解析をリードするものであり、大きなインパクトを世界に与えた。実際、英国の国際誌 *New Phytologist* 誌の研究紹介コラム(Commentary 欄)に計 4 回紹介されている。
- (9) 樹木の遺伝地理研究では、葉緑体マイクロサテライトマーカーを用いているが、このマーカーはこれまで少数の研究グループでのみ使用されてきた。本研究の中でその有効性が裏付けられたことから、このマーカーが今後の研究に広く使用されるものと予想される。
- (10) 以上、本研究のインパクトは極めて大きく、今後の分子生態データベース構築への取り組みに弾みを付けるものである。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 69 件)

1. Nara, K., Hogetsu, T. (2004) Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling

- establishment of successional plant species. *Ecology* 85: 1700-1707
2. Lian C, Oishi R, Miyashita N, Hogetsu T (2004) High somatic instability of a microsatellite locus in a clonal tree, *Robinia pseudoacacia*. *Theoretical and Applied Genetics* 108:836-841
  3. Wu B, Nara K, Hogetsu T (2005) Genetic structure of *Cenococcum geophilum* populations in an early successional volcanic desert on Mount Fuji as revealed by microsatellite markers. *New Phytologist* 165:285-293
  4. Lian CL, Gueng QF, Wadud MA, Shimatani k, Hogetsu T (2006) An improved technique for isolating codominant compound microsatellite markers. *Journal of Plant Research* 119:417-419
  5. Goto S, Shimatani K, Yoshimaru H, Takahashi Y (2006) Fat-tailed gene flow in the dioecious canopy tree species, *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* revealed by microsatellites. *Molecular Ecology* 15: 2985–2996
  6. Lian CL, Narimatsu M, Nara K, Hogetsu T (2006) *Tricholoma matsutake* in a natural *Pinus densiflora* forest: correspondence between above- and below-ground genets, association with multiple host trees and alteration of existing ectomycorrhizal communities. *New Phytologist* 171:825-836
  7. Zhou Z, Wu BY, Sakaue D, Hogetsu T (2007) Genetic structure of populations of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*, the pathogen of pine wilt disease, between and within pine forests. *Phytopathology* 97:304-310
  8. He, X.H. Nara, K. (2007) Element biofortification: can mycorrhizas potentially offer a more effective and sustainable pathway to curb human malnutrition? *Trends in plant science* 12: 331-333.
  9. Lian C, Goto S, Kubo T, Takahashi Y, Nakagawa M, Hogetsu T (2008) Nuclear and chloroplast microsatellite analysis of *Abies sachalinensis* regeneration on fallen logs in a sub-boreal forest in Hokkaido, Japan. *Molecular Ecology* 17:2948-2962
  10. Geng Q, Lian CL, Goto S, Tao J, Kimura M, Islam MS, Hogetsu T (2008) Mating system, pollen and propagule dispersal, and spatial genetic structure in a high-density population of the mangrove tree *Kandelia candel*. *Molecular Ecology* 17:4724-4739
  11. Wu B, Kurokochi H, Hogetsu T (2009) Development of 12 microsatellite markers in *Euptelea polyandra* by a random tailed genome-walking method using Phi29 DNA polymerase. *Conservation Genetics Resources* 1: 59-61
- [学会発表] (計 71 件)
1. 宝月岱造 (2010.5.21) 「外生菌根菌ネットワークの構造と機能」日本土壤微生物学会(特別講演) 東京
  2. 練春蘭 (2010) 「マイクロサテライトマーカーを用いたマングローブの集団遺伝的構造と分散動態」共同利用研究会「沿岸海洋生物の広域動態研究の最前線」, 東京大学海洋研究所(招待講演)
  3. Nara K (2009) "Biogeography of ectomycorrhizal fungi found in a dipterocarp forest in Indonesia." Asian Mycological Congress, Taiwan, (招待講演)
  4. Nara K (2008) "Host effects on ectomycorrhizal fungal communities." 21st New Phytologist Symposium "The ecology of ectomycorrhizal fungi", Montpellier, France, (招待講演)
  5. Ishida TA, Nara K, Tanaka M, Kinoshita A, Hogetsu T (2008) "Germination and infectivity of ectomycorrhizal fungal spores in relation to their ecological traits during primary succession." 21st New Phytologist Symposium "The ecology of ectomycorrhizal fungi" Montpellier, France
  6. Kurokochi H, Matsushita N, Hogetsu T (2008) "Primary process of tree establishment in vegetation patches on gravel areas at sediment dams." The 10th International Congress of Ecology (INTECOL), Brisbane, Australia
  7. 練春蘭 (2007) 「多摩川河川敷に生育するニセアカシアの遺伝的構造と花粉の散布様式」 外来種ニセアカシアシンポジウム, 信州大(招待講演)

8. 奈良一秀 (2006) 「富士山火山荒原の菌根共生」第12回微生物をめぐる生物間相互作用に関する研究集会 (東京大学・11月) (招待講演)
9. Nara K (2006) "Functional ecology of ectomycorrhizal symbiosis during early primary succession." The 5th International Conference on Mycorrhiza (Granada, Spain), (招待講演)
10. Nara K (2006) "Ectomycorrhizal symbioses and vegetation development in the primary successional volcanic desert on Mount Fuji." The 8th International Mycological Congress (Cairns, Australia), (招待講演)
11. Nara K (2006) "Ectomycorrhizal fungal networks facilitate plant succession." British Mycological Society Annual Conservation & Taxonomy Meeting in partnership with The Royal Botanic Gardens, Kew (London, UK), (招待講演)
12. Goto S, Miyahara F, Mori Y, Watanabe A (2004) "Genetic assessment of orchard crops in Japanese Black Pine clonal seed orchard consisting of pinewood nematode-resistant clones." Proceeding of 2004 IUFRO Joint Conference Division 2, Forest Genetics and Tree breeding in the age of genomics: progress and future.242-245.

[図書] (計7件)

1. 練春蘭・木村恵・崎尾均・宝月岱造 2009 マイクロサテライトマーカーが明かすニセアカシアの繁殖特性. 崎尾均編,ニセアカシアの生態学, 185-200, 文一総合出版
2. 後藤晋 (2009) ジーンフロー研究の成果をどのように森林管理に活かすか? 北方林業会編, 北の森づくりQ&A 北方林業会創立60周年記念誌, pp. 82-85
3. 奈良一秀 (2008) 菌根菌による植生遷移促進機構. In: 植生遷移の自然史. 重定・露崎 編. 95-111 pp. 北海道大学出版会
4. Nara, K. (2008) Community development patterns and ecological functions of ectomycorrhizal fungi: implication from primary succession. In Mycorrhiza (3rd edition), Ajit Varma ed. Springer-Verlag, Germany

5. He, X.H., Critchley, C., Nara, K., Southworth, D., Bledsoe, C.S. (2008) Quantification of nitrogen transfer between plants linked by mycorrhizal networks. In: Mycorrhizal Manual (2nd edition), Ajit Varma ed. Springer-Verlag, Germany
6. 後藤晋 (2008) ヤチダモ・アオダモ, 北海道林木育種協会編, 北海道における林木育種と森林遺伝資源, pp.181-188
7. 宝月岱造 (2004) 共生系としての森林. 鈴木和夫編著「森林保護学」pp.49-57

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宝月岱造 (HOGETSU TAIZO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号: 10107170

(2) 研究分担者 (2007年度まで)

練春蘭 (LIAN CHUNLAN)

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・准教授

研究者番号: 40376695

後藤晋 (GOTO SUSUMU)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号: 60323474

奈良一秀 (NARA KAZUhide)

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・助教

研究者番号: 60270899

(3) 連携研究者 (2008年度)

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・准教授

研究者番号: 40376695

後藤晋 (GOTO SUSUMU)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号: 60323474

奈良一秀 (NARA KAZUhide)

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・助教

研究者番号: 60270899